

PERBEDAAN JUMLAH FIBROBLAS DI SEKITAR LUKA INSISI
PADA TIKUS YANG DIBERI INFILTRASI PENGHILANG NYERI
LEVOBUPIVAKAIN DAN YANG TIDAK DIBERI LEVOBUPIVAKAIN

Suatu Studi Histokimia

*(The difference of fibroblast number surround incision wound on rats
with or without infiltration of Levobupivakain)*



Tesis :

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai derajat sarjana S 2

Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi

Magister Ilmu Biomedik

Yudhi Prabakti

PROGRAM PASCASARJANA
dan
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ANESTESIOLOGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

2005

UPT-PUSTAK-UNIP	
No. Daft:	4514/T/FR/C1
Tgl.	24-8-06

Tesis

PERBEDAAN JUMLAH FIBROBLAS DI SEKITAR LUKA INSISI PADA TIKUS YANG DIBERI INFILTRASI PENGHILANG NYERI LEVOPUPIVAKAIN DAN YANG TIDAK DIBERI LEVOPUPIVAKAIN

Suatu Studi Histokimia

*(The difference of fibroblast number surround incision wound on rats
with or without infiltration of Levobupivakain)*

Disusun oleh

Yudhi Prabakti

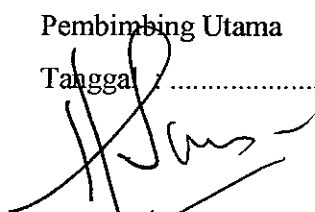
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal **16 Nopember 2005**
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui

Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Tanggal :



dr. Hariyo Satoto, SpAn

NIP. 140 096 999

Pembimbing Anggota

Tanggal :

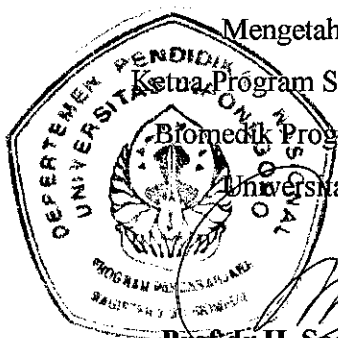


Prof. Dr. dr. H. Tjahyono, SpPA(K), FIAC

NIP. 130 368 076

Mengetahui:

Ketua Program Studi Magister Ilmu
Biomedik Program Pascasarjana
Universitas Diponegoro



Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)

NIP. 130 352 549

Mengetahui

Ketua Program Studi Anestesiologi
FK UNDIP RS dr Kariadi Semarang



dr. Uripno Budiono, SpAn

NIP. 140 098 893

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh berasal dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Oktober 2005

Dr. Yudhi Prabakti

NIM: G4A001017

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Yudhi Prabakti
NIM Magister Ilmu Biomedik : G4A001017
NIM PPDS I anesthesiologi : G3F001077
Tempat / Tanggal lahir : Brebes , 13 Oktober 1973
Jenis Kelamin : Laki – laki
Alamat : Jl. Puspowarno Tengah V no 6, Semarang

Riwayat Pendidikan

1. SD : 1982
2. SMP : 1989
3. SMA : 1992
4. FK UNDIP : 1999

Riwayat Pekerjaan

1. Dokter RSUD dr. Koesma Tuban : Tahun 1999 – 2001

Riwayat Keluarga

Nama Istri : dr. Anna T.R Ritonga
Nama Orang Tua Ayah : dr. Zainul Arifin, SpA.
Ibu : Endang Wintarti
Nama Anak : 1. Justin Aditya Putra Prabakti

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Swt atas anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Perbedaan jumlah fibroblast di sekitar luka insisi pada tikus yang diberi infiltrasi penghilang nyeri levobupivakain dan yang tidak diberi levobupivakain. Suatu studi histokimia “, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh derajat sarjana S₂ di bidang Ilmu Biomedik, Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini tidak akan mampu penulis selesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Khusus kepada dr. Hariyo Satoto, SpAn(K) sebagai dosen pembimbing utama dan Prof.Dr.dr. H Tjahyono, SpPA K, FIAC sebagai dosen pembimbing kedua, penulis mengucapkan terima kasih atas segala bimbingan, sumbangan pikiran, waktu serta dorongan semangat dalam penulisan tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih setulus-tulusnya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro di Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di bidang Anestesiologi dan Program Pasca Sarjana program studi Ilmu Biomedik.
2. dr. Kabul Rachman, SpKK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan mengikuti Pendidikan Dokter Spesialis dan Program Pasca Sarjana program studi Ilmu Biomedik.
3. dr. Hariyo Satoto, SpAn (K), selaku Kepala Bagian Anestesiologi FK UNDIP / RS.dr. Kariadi Semarang yang memberikan dukungan dan semangat selama penulis mengikuti pendidikan dokter spesialis.

4. Prof.dr. H. Soebowo,SpPA (K), selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan mengikuti Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik.
5. dr.Uripno Budiono, SpAn (K), Ketua Program Studi Anestesiologi FK UNDIP / RS.dr.Kariadi Semarang yang telah memberi dukungan dan dorongan semangat selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis anestesiologi dan program pasca sarjana ilmu biomedik.
6. dr. Soeharsono,SpOG, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis FK UNDIP yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan dokter spesialis.
7. Dra. Dyah Retno Budiani, Msi, Staf pengajar Patologi Anatomi FK UNS Surakarta yang dengan sabar dan telaten membimbing serta memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biomedik FK UNS Surakarta.
8. dr. Hardian, yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam analisis statistik dan metodologi penelitian.
9. Tim penguji dan nara sumber proposal dan penguji tesis yang telah berkenan memberi masukan dan arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
10. Pimpinan Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan Kepala Bagian Patologi Anatomi FK UNS Surakarta, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.
11. Isteri, ibu dan ayah, mertua serta anakku tercinta yang dengan penuh pengertian, kesabaran serta senantiasa mendoakan dan memberikan dorongan semangat agar penulis dapat menyelesaikan pendidikan spesialis dan pendidikan magister.

12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan andil yang besar dalam penulisan tesis ini.

Akhir kata, penulis yakin bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan, karenanya sangat diharapkan saran serta kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Penulis berharap agar penelitian ini secara luas dapat berguna bagi pembaca, masyarakat dan berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran serta menjadi wacana untuk penelitian lebih lanjut.

Semarang, Oktober 2005

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Halaman pengesahan	ii
Daftar riwayat hidup	iii
Kata pengantar	iv
Daftar isi	vii
Daftar tabel	ix
Daftar singkatan	x
Daftar gambar	xi
Abstrak	xii
BAB I : PENDAHULUAN	
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	2
I.4. Manfaat Penelitian	2
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	
II.1. Levobupivakain	3
II.2. Patofisiologi nyeri	6
II.3. Penyembuhan luka	11
II.4. Fibroblas	12
II.5. Pengaruh faktor sistemik dan lokal dalam proses penyembuhan	16
II.6. Pengaruh anestesi lokal terhadap penyembuhan luka operasi	17
BAB III : KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
III.1. Kerangka teori	19
III.2. Kerangka konsep	20
III.3. Hipotesis	20
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	
IV.1. Rancangan penelitian	21

IV.2. Sampel penelitian	22
IV.3. Waktu dan lokasi penelitian	22
IV.4. Variabel penelitian	22
IV.5. Definisi operasional	23
IV.6. Bahan dan alat penelitian	23
IV.7. Pelaksanaan Penelitian	24
IV.8. Prosedur pemeriksaan	27
IV.9. Cara pengumpulan data	28
IV.10. Analisa data	28
BAB V. : HASIL DAN PEMBAHASAN	
V.1. Hasil penelitian	29
V.2. Pembahasan	30
BAB VI.: KESIMPULAN DAN SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Peran sel pada fase penyembuhan luka

Tabel 5.1. Rerata dan Simpang Baku jumlah fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi

DAFTAR SINGKATAN

ADH	: Antidiuretic Hormone
ECM	: Extra Cellular Matrix
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta
IL-1/-4 /-6/-8	: Interleukin -1 / -4/ -6 / -8
Ig G1	: Immunoglobulin G 1
IFN- γ	: Interferon gamma
TNF α	: Tumor Necrosis Factor α
TH1/2/3	: T Helper 1 / 2 / 3
CD4 ⁺	: Cluster of Differentiation 4 ⁺
CRH	: Corticotropic Releasing Hormone
ACTH	: Adreno Corticotropic Hormone
PVN	: Paraventricularis Nucleus
HPA	: Hipotalamus Pituitaria Adrenal
PMN	: Polimorphonuclear
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
aFGF	: acidic Fibroblast Growth Factor
eFGF	: epidermal Fibroblast Growth Factor
EGF	: Epidermic Growth Factor
m RNA	: messenger Ribonucleid Acid
ICAM	: Intracellular Adhesion Molecule

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Fase penyembuhan luka
2. Diagram *box-plot* jumlah sel fibroblas tikus Wistar 5 hari pasca insisi
3. Gambar 3 & 4. Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta
4. Gambar 5 & 6. Kandang tikus tunggal
5. Gambar 7. Pemberian infiltrasi levobupivakain setelah dilakukan insisi
6. Gambar 8. Pembiusan tikus dengan ether sebelum dilakukan insisi
7. Gambar 9. Pengambilan jaringan biopsi
8. Gambar 10. Luka bekas pengambilan jaringan insisi
9. Gambar 11. Jaringan biopsi
10. Gambar 12. Mikrotom
11. Gambar 13. Pengecatan dengan Van Giesson
12. Gambar 14. Pembacaan hasil dengan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi kamera digital DP-70 memakai software OLYSIA

ABSTRAK

Latar belakang : Respon normal terhadap trauma jaringan adalah proses perbaikan untuk mengembalikan susunan anatomi dan fisiologi. Interaksi antara faktor pertumbuhan dan sel yang terlibat dalam proses perbaikan jaringan, salah satunya adalah fibroblast, memegang peran penting dalam penyembuhan luka. Nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun dan menekan makrofag. Hal ini menyebabkan sitokin yang dilepaskan makrofag seperti $TNF\ \alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, $TGF\ \beta$ aktivitasnya ikut menurun. $TGF\ \beta$ mempunyai peran menstimulasi fibroblast, meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi untuk proses penyembuhan luka.

Metode : Dilakukan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain "*Randomized Post test only control group design*" yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Sampel dibagi dalam tiga kelompok, kelompok kontrol yaitu tikus sehat yang tidak diberikan perlakuan sama sekali, kelompok P_1 yaitu kelompok yang setelah diinsisi tidak diberikan infiltrasi levobupivakain, dan kelompok P_2 yaitu kelompok yang setelah dilakukan insisi diberikan infiltrasi levobupivakain setiap 8 jam dalam 24 jam pertama dengan keluaran (outcome) berupa jumlah fibroblast. Data dianalisa dengan uji *One Way Anova* dan uji *Bonferroni* dengan derajat kemaknaan $p < 0.05$.

Hasil : Jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 2 yaitu 106,96 (SD=10,059) adalah lebih tinggi dibanding Kelompok Kontrol yaitu 80,76 (SD=3,035) dan kelompok perlakuan 1 yaitu 42,96 (SD=11,159).

Simpulan : Jumlah fibroblast pada kelompok yang diberi infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi infiltrasi levobupivakain.

Kata kunci : levobupivakain, fibroblast, penyembuhan luka

ABSTRACT

Background : Normal response to tissue injury is a reparative process that results in sustained restoration of anatomical and functional integrity. The interaction of growth factors and cells involved in the process of tissue repair (i.e., fibroblasts), plays an important role in wound healing. Pain and anxiety give stress to immune system and suppress macrophage. In this condition cytokines which are released by macrophage (i.e. TGF β) decreased. TGF β has important role to stimulate fibroblasts and increase the extracellular matrix (ECM) for wound healing process.

Methods : This study is a laboratory experimental study with randomized post test only control group design. Fifteen Wistar rats were divided into three groups. The Control group were healthy rats without any treatment. The P1 group didn't get levobupivacaine after incision, and P2 group got levobupivacaine every 8 hours in first 24 hours after incision. The fibroblast number was the outcome, and analyzed using One Way Anova test and Bonferroni test. The significance level was $p < 0.05$.

Result : The fibroblast number of P1 group was 106.96, higher than the fibroblast number of control group (80.76), whereas the control group was 42.96.

Conclusion : The fibroblast in group which get levobupivacaine infiltration is higher than on the groups without levobupivacaine infiltration.

Keywords : *Levobupivacaine, fibroblast, wound healing process.*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang masalah

Penyembuhan luka adalah suatu proses koordinasi yang melibatkan hubungan yang rumit antara faktor seluler, humoral dan unsur jaringan ikat. Respon host terhadap penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling tumpang tindih yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi.^{1,2}

Diantara sel sel jaringan ikat yang sangat penting dalam remodelling dan penyembuhan dari jaringan yang rusak adalah fibroblastt. Fibroblastt adalah komponen seluler primer dari jaringan ikat dan sumber sintetis utama dari matrik protein misalnya kolagen. Kolagen yang dihasilkan fibroblastt akan membentuk struktur protein utama pada jaringan ikat yang memberikan daya regang (*tensile strenght*) pada penyembuhan luka.^{2,3}

Nyeri merupakan salah satu faktor yang dapat menghambat penyembuhan luka. Nyeri bila tidak dikelola dengan tepat akan berakibat memperpanjang fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortikoid dan resistensi insulin. Peningkatan hormon glukokortikoid mempengaruhi proses anti inflamasi, menghambat pembentukan fibroblastt, mengganggu sintesis kolagen sehingga menghambat penyembuhan luka.⁴

Dalam keadaan nyeri, β endorfin yang dilepas pituitaria kadarnya akan meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga produksi juga menurun. Penurunan beberapa faktor pertumbuhan ini akan berakibat terjadinya hambatan kesembuhan luka.⁵

Infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain dapat mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri, sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid dan menghilangkan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka^{6,7}.

Dari uraian tersebut diatas peneliti terdorong untuk melakukan penelitian tentang pengaruh infiltrasi levobupivakain sebagai obat anestesi lokal melalui proses hambatan rangsang nyeri, terhadap perubahan pada tingkat seluler jumlah fibroblast yang merupakan faktor yang penting dalam proses penyembuhan luka. Penelitian yang pernah dilakukan oleh Mulyata St (2002) dalam penelitian pada tikus yang mendapatkan rangsang stres akan mengalami perpanjangan masa penyembuhan luka^{8,9,10}.

I.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- Apakah infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain meningkatkan jumlah fibroblast dalam kaitannya dengan penyembuhan luka pada binatang percobaan.

I.3. Tujuan penelitian

I.3.1. Tujuan umum

- Membuktikan pengaruh pemberian infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain terhadap jumlah fibroblast pada binatang percobaan.

I.3.2. Tujuan khusus

1. Mengukur secara histologis adanya perbedaan jumlah fibroblast pada kelompok pada kelompok K (kelompok kontrol tanpa insisi), kelompok P₁ (kelompok perlakuan yang dilakukan insisi tanpa diberi infiltrasi levobupivakain) dan kelompok P₂ (kelompok perlakuan yang dilakukan insisi dan diberi infiltrasi levobupivakain)
2. Membandingkan jumlah fibroblast antara kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P₁), dan kelompok perlakuan 2 (P₂).

I.4. Manfaat penelitian

Apabila hipotesis penelitian ini terbukti, maka diharapkan :

1. Penelitian ini dapat menjadikan sumbangan teori untuk mengungkap mekanisme penyembuhan luka dengan pemberian infiltrasi anestesi lokal levobupivakain sebagai penghilang rangsang nyeri.
2. Penelitian ini dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai kecepatan penyembuhan luka dengan mengikuti dari awal sampai berakhirnya proses penyembuhan luka.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. LEVOBUPIVAKAIN

II.1.1 Sifat kimia

Levobupivakain adalah obat anestesi lokal dengan durasi lama. Termasuk golongan amid (CONH-) yang memiliki atom karbon asimetrik dan isomer Levo(-). Levobupivakain memiliki pKa 8,1 , pKa berarti pH pada saat 50% molekul basa bebas dan 50% molekul dengan muatan ion positif. Bila ditambahkan bikarbonat pH akan meningkat sebanding dengan molekul basa bebas, molekul akan bebas melintasi membran akson dengan mudah dan secara farmakologis beraksi lebih cepat. Sebaliknya pada pH rendah atau asam akan lebih sedikit molekul basa bebas melintasi membran akson dengan aksi farmakologis lebih lambat, contoh pada infeksi lokal. Ikatan dengan protein lebih dari 97% terutama pada asam α 1 glikoprotein dibandingkan pada albumin, sedangkan ikatan protein dengan bupivakain 95%. Hal ini berarti kurang dari 3% obat berada bebas dalam plasma. Fraksi konsentrasi yang kecil ini dapat berefek pada jaringan lain yang menyebabkan efek samping dan manifestasi toksik. Pada pasien hipoproteinemi, sindrom nefrotik, kurang kalori protein, bayi baru lahir dengan sedikit kadar protein, menyebabkan kadar obat bebas dalam plasma tinggi sehingga efek toksik terlihat pada dosis rendah.^{7,9}

II.1.2 Farmakokinetik

Metabolisme obat terjadi di hepar oleh enzim sitokrom P 450 terutama CYP1A2 dan CYP3A4 *isoforms*. Cara pemberian melalui epidural , spinal, blok saraf perifer dan infiltrasi. Penggunaan intravena sangat terbatas karena beresiko toksik. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar.^{7,9}

II.1.3 Farmakodinamik

Mekanisme aksi sama dengan bupivakain atau obat anestesi lokal lain. Apabila MLAC (*minimum local analgesic concentration*) tercapai, obat akan melingkupi membran akson sehingga memblok kanal natrium dan akan menghentikan transmisi impuls saraf. Konsentrasi untuk menimbulkan efek toksik pada jantung dan saraf lebih besar pada levobupivakain dari pada bupivakain. Batas keamanan 1,3 berarti efek toksik tidak akan terlihat sampai konsentrasi 30%.^{7,9}

II.1.4 Efek toksik

Levobupivakain menimbulkan depresi kardiak lebih sedikit dibandingkan bupivakain dan ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada bupivacain lebih rendah rata rata 47,1 mg dibandingkan levobuvikain 56.1 mg.^{7,9}

II.1.5 Aplikasi klinik

Levobupivakain dapat digunakan untuk epidural, subaraknoid , blok pleksus brakialis, blok supra dan infra klavikuler, blok interkostal dan interskalen, blok saraf perifer, blok peribulber dan retrobulber, infiltrasi lokal, analgesi obstetri, pengelolaan nyeri setelah operasi, pengelokaan nyeri akut dan kronis. Dosis tunggal maksimum yang digunakan 2 mg /kg bb dan 5,7 mg/kg bb (400 mg) dalam 24 jam.^{7,9}

II.1.6 Efek samping

Sama dengan efek samping obat anestesi lainnya, diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang.^{7,9}

II.2. PATOFISIOLOGI NYERI

Nyeri merupakan gejala umum dari hampir setiap penyakit, bersifat subyektif, dan disertai konsekuensi psikologis bervariasi, menyebabkan nyeri memiliki definisi bermacam-macam. Nyeri merupakan suatu pengalaman hidup kompleks, sinyal neurologis yang berasal dari jaringan tubuh terluka akan menyatu dengan emosi dan pikiran yang berproses menghasilkan pengalaman nyeri. Nyeri juga merupakan suatu sensasi tidak nyaman yang dirasakan timbul dari bagian tubuh tertentu, yang disebabkan proses yang merusak atau berpotensi merusak jaringan tubuh . Nyeri berarti pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan atau yang cenderung merusak jaringan.¹⁰

Luka irisan bedah termasuk nyeri klinis. Pada nyeri klinis terjadi perubahan kepekaan sistem saraf terhadap rangsang nyeri, sebagai akibat kerusakan jaringan yang disertai proses inflamasi, terlokalisir, hilang bila inflamasi dan jaringan sembuh. Nyeri klinis termasuk nyeri akut, yaitu reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak yang merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh. Nyeri akut dipicu oleh kerusakan somatik atau viseral dengan lama berlangsungnya bersamaan dengan penyembuhan luka.^{11,12}

Menurut McCance (1994) nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem otak dan sistem imun adalah CRF, ACTH, β endorfin, substansi P dan masih banyak lagi. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dan beberapa perubahan yang diinduksi stres. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis SAM (*Sympathetic Adrenal Medullary*).^{13, 14}

Dalam keadaan stres dan nyeri berat, β endorfin yang dilepas pituitaria kadarnya juga meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga aktivitas makrofag yang dipengaruhi IFN γ lebih menurun lagi. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat pada sitokin yang dilepaskan makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β aktivitasnya juga ikut menurun. Sel TH₃ yang didiferensiasi dari CD4⁺, karena pengaruh supresi kortisol, aktivitasnya juga menurun sehingga TGF β yang diproduksi TH₃, jumlah dan aktivitasnya juga ikut menurun. Padahal TGF β mempunyai peran meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi, sehingga apabila TGF β menurun, sitokin yang mempunyai peran penyembuhan luka kadarnya ikut menurun, sehingga berakibat terjadi hambatan kesembuhan luka^{11, 12, 13, 14}

Kerusakan di jaringan kulit atau jaringan perifer menyebabkan terlepasnya mediator kimiawi dan mensensitisasi nosiseptor sehingga terjadi penurunan nilai ambang. Mediator lain : bradikinin, substansi P, turut berpengaruh dan timbul impuls nosiseptif. Terjadilah proses transmisi, yang mengantar impuls nosiseptif melalui serabut aferen primer nosispetif dari perifer lewat radiks posterior menuju kornu posterior medula spinalis. Dalam kornu posterior terdapat sistem modulasi impuls nosiseptif yaang disebut gerbang kendali nyeri (*gate control theory of pain*). Gerbang kendali nyeri berperan sebagai modulator terhadap semua impuls nosiseptif yang masuk, dengan memperbesar atau menghambat impuls. Serabut fasikulus desendens keluar dari otak berjalan menuju gerbang kendali nyeri menuju setiap segmen medula spinalis. Serabut ini berfungsi membantu menghambat impuls nosiseptif yang berjalan dari perifer menuju sentral dan melewati gerbang kendali nyeri. Apabila intensitas impuls nosiseptif melampaui ambang sel transmisi T, maka impuls nosispetif akan berjalan mengikuti sistem aksi menuju pusat supraspinal untuk dipersepsi di pusat somatosensoris sebagai pengalaman nyeri.^{11, 12, 13, 14}

II.3. PENYEMBUHAN LUKA

Rangsang eksogen dan endogen dapat menimbulkan kerusakan sel, dan selanjutnya memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darahnya. Reaksi inflamasi berguna sebagai proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan untuk tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan luka, luka akan tetap menjadi sumber nyeri sehingga proses inflamasi dan penyembuhan luka akan cenderung menimbulkan nyeri.^{1, 15, 16}

Proses inflamasi terjadi pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang mengandung plasma, sel yang bersirkulasi, elemen seluler dan ekstra seluler jaringan pengikat. Termasuk komponen seluler adalah eritrosit, lekosit : netrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit, trombosit. Termasuk sel jaringan pengikat adalah sel mast, fibroblast, monosit, makrofag dan limfosit. Elemen ekstra seluler diantaranya kolagen, elatin, glikoprotein adesif : fibronectin, laminin, kolagen non fibril, tenasen, proteoglikan.^{16, 17}

Proses penyembuhan luka terjadi pada awal inflamasi, selanjutnya akan bersamaan. Dalam proses inflamasi terjadi kerusakan, pelarutan dan penghancuran sel atau agen penyebab kerusakan sel. Pada saat yang sama terjadi proses reparasi, proses pembentukan kembali jaringan rusak atau proses penyembuhan jaringan rusak. Proses ini baru selesai sempurna sesudah agen penyebab kerusakan sel dinetralkan. Selama proses reparasi berlangsung, jaringan rusak diganti oleh regenerasi sel parenkimal asli dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan fibroblast (proses *scarring*). Atau kombinasi keduanya.^{15, 16}

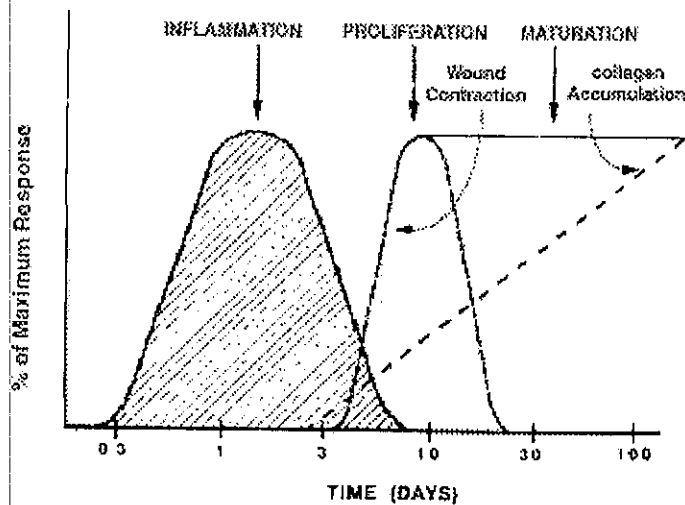
Penyembuhan luka merupakan proses terus menerus dari peradangan dan perbaikan, dimana sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblast keluar secara bersamaan dari tempatnya semula dan berinteraksi untuk mengembalikan kerusakan. Kerusakan jaringan akan diikuti reaksi kompleks dalam jaringan pengikat yang mempunyai pembuluh darah. Sel dalam jaringan rusak akan melepaskan mediator kimiawi yaitu kemoatraktan dan sitokin, yang mempunyai daya kemotaktik, mampu menarik lekosit dalam sirkulasi kapiler. Netrofil akan tertarik dan terjadi akumulasi mendekati sel endotel dinding venula. Proses ini disebut *marginasi*. Akumulasi netrofil akan menempel pada permukaan endotel karena adanya molekul adesi yang dilepaskan oleh endotel karena pengaruh IL 1 yang diproduksi netrofil.⁸

Molekul adesi tersebut antara lain E-selektin, ICAM 1, ICAM 2. Selanjutnya netrofil akan bergerak menggelinding pada permukaan endotel akibat daya dorong aliran plasma. Perlekatan netrofil pada endotel makin kuat dan bergerak aktif secara *diapedesis*, kemudian berhenti dan mengeluarkan *pseudopodia*, mengerutkan diri menyisip lewat celah antar membran basalis sel endotel untuk keluar *ekstravasasi* dan transmigrasi meninggalkan kapiler menuju jaringan interstitial yang rusak.⁸

Aktifitas netrofil sejak intravaskuler, transmigrasi ke tempat tujuan juga terjadi pada eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Di jaringan target sel tersebut aktif mematikan dan menghancurkan mikroba sesuai dengan cara masing-masing. Pada saat yang sama juga terjadi proses penyembuhan.¹⁶

Sitokin bersama faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF aktif berperan melaksanakan proses penyembuhan. Beberapa macam sitokin terlibat dalam proses penyembuhan yaitu : $\text{TNF } \alpha$, IL 1, IL 6, IL 8 dan $\text{TGF } \beta$. Setelah disekresi oleh sel T, sel B, makrofag, platelet, sel endotel, fibroblast, plasenta, tulang dan ginjal segera melepas dimer biologis aktif dari komponen molekul laten. Fungsinya bisa sebagai faktor inhibitor dan bisa juga sebagai stimulator. Pada konsentrasi rendah akan menginduksi sintesis dan sekresi PDGF, sedangkan pada konsentrasi tinggi merupakan inhibitor pertumbuhan karena menghambat ekspresi reseptor PDGF. $\text{TGF } \beta$ juga menstimulasi daya kemosistesis fibroblast, inhibisi produksi kolagen dan fibronektin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis $\text{TGF } \beta$ terlibat dalam pertumbuhan fibrosis³. Dalam keseimbangan antara deposisi dan degradasi fibrin fungsi sitokin keseluruhan dapat menggeser keseimbangan tersebut ke arah residu fibrin.⁸

II.3.1. Fase penyembuhan luka



Gambar 1. Fase penyembuhan luka

II.3.1.1. Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. Proses penyembuhan terjadi pada saat terjadi luka. Luka karena trauma atau luka karena pembedahan mengakibatkan kerusakan pada struktur jaringan dan mengakibatkan perdarahan. Pada awalnya darah akan mengisi jaringan yang cedera dan terpaparnya darah terhadap kolagen akan mengakibatkan terjadinya degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Hal ini kemudian akan memicu sistem biologis lain seperti pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadan ini memperkuat sinyal dari daerah terluka, yang tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah di daerah luka. Hal ini menyebabkan edema dan kemudian menimbulkan pembengkakan dan nyeri pada awal terjadinya luka. Poli morfo nuklear (PMN) adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk. Pada penyembuhan luka normal tampaknya kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting sebab penyembuhan luka dapat terjadi tanpa keberadaan sel-sel ini. Adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Bila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga.^{1,2}

Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. Muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Sebaliknya dari PMN, makrofag dan limfosit T penting keberadaannya pada penyembuhan luka normal. Makrofag seperti halnya netrofil, memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga melepas zat biologis aktif. Zat ini mempermudah terbentuknya sel inflamasi tambahan yang membantu makrofag dalam dekontaminasi dan membersihkan sisa jaringan. Makrofag juga melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan formasi jaringan granulasi. Zat yang berfungsi sebagai transmitter interseluler ini secara keseluruhan disebut sitokin.⁵

II.3.1.2 Fase proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 14. Bila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblast dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronectin dan asam hialuronik. Fibroblast muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblast pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblast ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal, terutama yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblast merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblast juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai

minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Penumpukan kolagen pada saat awal terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka. Fibroblast juga menyebabkan matriks fibronectin, asam hialoronik dan glikosaminoglikan. Proses proliferasi fibroblast dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia.⁵

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas-tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 setelah luka sel-sel endotelial dari venulae mulai bermigrasi sebagai respon stimuli angiogenik. Tunas-tunas kapiler ini bercabang di ujungnya kemudian bersatu membentuk lengkung kapiler dimana darah kemudian mengalir. Tunas-tunas baru muncul dari lengkung kapiler membentuk pleksus kapiler. Faktor-faktor terlarut yang menyebabkan angiogenesis ini masih belum diketahui. Tampaknya proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Mediator pertumbuhan sel endotelial ini dan kemotaksis termasuk sitokin yang dihasilkan trombosit, makrofag dan limfosit pada luka, tekanan oksigen yang rendah, asam laktat dan amin biogenik. Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *acidic FGF* (aFGF), *transforming growth factor α β* (TGF α β) dan *epidermal growth factor* (eFGF). FGF pada percobaan *invivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi.⁵

Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Sel basal marginal pada tepi luka menjadi longgar ikatannya dari dermis di dekatnya, membesar dan bermigrasi ke permukaan luka yang sudah mulai terisi matriks sebelumnya. Sel basal pada daerah dekat luka mengalami pembelahan yang cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel yang bermigrasi berubah bentuk menjadi lebih kolumnar dan meningkat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Stimulator reepitelisasi ini belum diketahui secara lengkap. Faktor faktor yang diduga berperan adalah EGF, TGF β , Bfgf, PDGF dan *insulin like growth factor* (IGF λ).⁵

II.3.1.3. Fase maturasi

Fase ini berlangsung dari hari ke 7 sampai dengan 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronectin. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel subtratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan penumpukan kolagen oleh fibroblast. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar berperan dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel-bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks sebagian besar tersusun dari fibronectin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir penyembuhan luka tetap kurang dibanding dengan kulit yang tidak pernah terluka, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh.⁵

Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundel-bundel kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking* inter molekuler. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan tinggi sintesis kolagen mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun. Remodeling aktif jaringan parut akan terus berlangsung sampai 1 tahun dan tetap berjalan dengan lambat seumur hidup.⁵

Pada proses remodeling terjadi reduksi secara perlahan pada vaskularisasi dan selularitas jaringan yang mengalami perbaikan sehingga terbentuk jaringan parut kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler. Hal ini tampak pada eritema berkurang dan reduksi jaringan parut yang terbentuk. Gambaran tersebut merupakan gambaran normal dari penyembuhan. Pada beberapa kasus terjadi pengerutan jaringan parut yang menyebabkan penurunan mobilitas kulit seperti pada kontraktur. Pengerutan luka yang terjadi karena

pergerakan ke dalam dari tepi luka juga merupakan faktor berpengaruh dalam penyembuhan luka dan harus dibedakan dengan kontraktur.⁵

II.4. FIBROBLAST

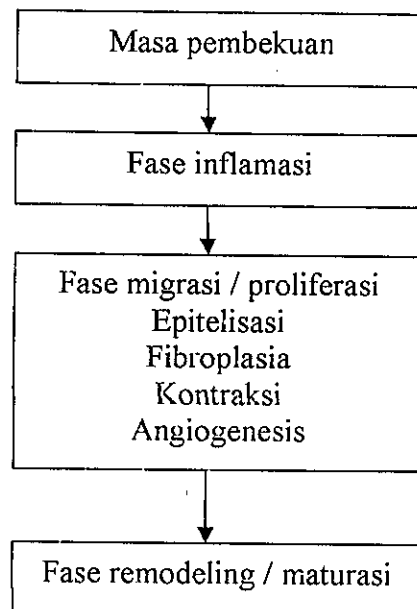
Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dimana merupakan hasil interaksi antara seluler, humoral, dan elemen-elemen jaringan ikat. Proses perbaikan luka berbeda antara jaringan yang satu dengan yang lain tergantung dari jenis luka. Pada proses penyembuhan luka elemen yang berbeda secara kontinyu dan bersamaan bekerja secara terintegrasi, tetapi untuk keperluan deskriptif dapat dibagi menjadi fase-fase yang saling tumpang tindih yakni fase inflamasi, fase migrasi atau proliferasi, ada pula yang menyebutnya sebagai fase granulasi dan fase maturasi atau remodeling. Ketiga fase tersebut didahului oleh proses koagulasi dimana protein-protein koagulasi dan platelet bekerja untuk mencegah perdarahan. Sel-sel yang berperan dalam setiap fase berbeda-beda, tergantung fungsi dan tujuan fase. Sel-sel yang berperan pada setiap fasenya terperinci pada tabel 1.

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka

Fase	Sel-sel yang berperan
Proses koagulasi	Trombosit
Inflamasi	Trombosit Makrofag Neutrofil
Migrasi / proliferasi / granulasi	Makrofag Limfosit Fibroblast Sel epitel Sel endotel
Maturasi / remodelling	Fibroblast

Dari table 1 dapat kita ketahui bahwa sel fibroblast berperan pada dua fase yaitu pada fase migrasi atau disebut juga fase proliferasi/granulasi dan fase remodeling atau disebut juga fase maturasi.

Pada fase granulasi terbagi lagi menjadi beberapa bagian seperti yang dapat ditunjukkan pada bagan berikut



Bagan 1. Rangkaian fase penyembuhan luka.

Dari bagan 1 tersebut fase migrasi atau proliferasi terbagi atas beberapa rangkaian yaitu Epitelisasi, fibroplasia, kontraksi dan angiogenesis. Fibroblast berperan pada seluruh rangkaian tersebut. Peran fibroblast pada setiap rangkaian akan di jelaskan lebih lanjut.³

1. Fase migrasi / proliferasi / granulasi

Jaringan granulasi ditandai dengan bentuknya yang berwarna kemerahan seperti daging, akibat pembelahan dan migrasi sel endotelial untuk membentuk rangkaian jaringan kaya kapiler yang baru (angiogenesis) pada tempat luka. Fibroblast luka berasal dari sel-sel fibroblast disekitar luka yang mengubah fenotif diferensiasi mereka dan menjadi aktif selama proses replikasi. Fibroblast bermigrasi kedalam luka, menggunakan timbunan fibrin dan matriks fibronectin sebagai *scaffold*. Fibroblast berproliferasi (fibroplasia) dan mensintesa matriks ekstraseluler baru. Pertumbuhan sel-sel endotelial vaskuler terjadi secara simultan dengan proses fibroplasia selama pembentukan atau formasi jaringan granulasi, distimulasi oleh platelet dan produk-produk makrofag yang teraktivasi. Jadi , jaringan granulasi merupakan suatu matriks longgar yang tampak pada luka dan terbentuk dari kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat, dengan infiltrasi makrofag, fibroblast, dan sel-sel endotelial vaskuler.²

Awal matriks luka sementara dibentuk oleh fibrin, fibronectin, dan asam hialuronat juga Glykosaminoglikan (GAG) yang seluruhnya, kecuali fibrin, dihasilkan oleh fibroblast. Akibat kerangka bentuk asam hialuronat yang mengandung banyak air, asam hialuronat menyediakan matriks yang meningkatkan migrasi sel. Adhesi glykoprotein, termasuk fibronectin, laminin, dan tenascin, terdapat diseluruh matriks awal dan memfasilitasi pertambahan dan migrasi sel. reseptor integrin pada permukaan sel terikat pada matriks GAG dan glikoprotein. Saat fibroblast memasuki dan mengisi luka, mereka menggunakan hialuronidase untuk mendigesti matriks sementara yang kaya akan asam hialuronat dan kemudian menimbun lebih banyak GAG. Secara concomitan, fibroblast menimbun kolagen diatas fibronectin dan *scaffold* GAG dalam susunan tak teratur. Kolagen tipe I dan III merupakan kolagen fibriler utama yang membentuk matriks ekstraseluler kulit. Kolagen tipe III juga awalnya lebih predominan pada luka dibandingkan dengan kulit normal, tetapi saat luka matur, kolagen tipe I lebih banyak tertimbun dalam luka. kolagen yang paling banyak baik pada luka maupun kulit normal adalah kolagen tipe I. ^{1, 2, 3}

a. Epitelisasi

Dalam waktu beberapa menit setelah terjadinya luka, perubahan-perubahan morfologi pada keratinosit pada tepi luka terjadi. Pada kulit yang luka, epidermal menebal, dan sel-sel basal marginal melebar dan bermigrasi memenuhi defek pada luka. Satu kali sel bermigrasi, sel tersebut tidak akan berbelah hingga kontinuitas epidermal diperbaiki. Sel-sel basal yang telah diperbaiki pada area dekat potongan luka terus membelah, dan sel-sel yang dihasilkan merata dan bermigrasi ke seluruh matriks luka membentuk suatu lembaran. Adhesi sel glikoprotein seperti fibronectin, vitronectin, dan tenascin menyediakan “jalan” untuk memfasilitasi migrasi sel epitelial ke matriks luka. Keratinosit mendasari laminin dan kolagen tipe IV sebagai bagian mereka pada membran dasar. Keratinosit menjadi kolumner dan membelah sebagai lapisan epidermis yang terbentuk.

b. Fibroplasia

Hasil proses penyembuhan luka pada mamalia adalah pembentukan jaringan parut. Morfologi jaringan parut terbentuk akibat kurangnya susunan jaringan dibandingkan susunan jaringan normal disekitarnya. Deposisi kolagen yang tak teratur memainkan peranan menonjol pada pembentukan jaringan parut. Serat-serat kolagen baru di sekresi oleh fibroblast yang mulai dihasilkan pada hari ke-3 setelah terjadinya luka. Saat matriks kolagenosa terbentuk, serabut padat kolagen akan mengisi area luka.

c. Kontraksi

Pada luka terbuka, sekeliling kulit yang tak luka-luka tertarik menutupi defek sebagai proses kontraksi luka. Hal ini berhubungan dengan gerakan centripetal kulit. Kulit yang tertarik memiliki struktur dermis normal. Secara umum kontraksi luka menguntungkan karena mengurangi area jaringan parut yang menutupi defek.

Sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka adalah myofibroblast. Myofibroblast merupakan sel mesenkim dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblast dan sel-sel otot polos. Sel tersebut merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang membangkitkan tenaga kontraktile melibatkan aktivitas kontraksi muskuler aktin-miosin sitoplasma.

Myofibroblast berasal dari fibroblast luka, dan tanda dari fenotip myofibroblast adalah ekspresi aktin otot halus- α , bentuk aktif serupa dengan sel-sel otot polos vaskuler. Mikrofilamen aktin tersusun sepanjang axis panjang fibroblast dan berhubungan dengan dense bodies untuk tambahan pada sekeliling matriks seluler. Myofibroblast juga memiliki tambahan fungsi unik yang menghubungkan sitoskeleton ke matriks ekstraseluler yang disebut *fibronexus*. Fibronexus dibutuhkan untuk koneksi yang menjembatani membran sel antara mikrofilamen interseluler dan fibronectin ekstraseluler. Jadi, kekuatan kontraksi luka mungkin disebabkan oleh kumparan aktin dalam myofibroblast, dan hal tersebut diteruskan ke tepi luka oleh ikatan sel-sel dan sel-matriks.

d. Angiogenesis

Keluarga angiopoetin terdiri dari 4 anggota, yaitu angiopoetin 1 sampai 4. yang berperan dalam angiogenesis adalah angiopoetin 2.

Dalam pembentukan jaringan baru sangat dibutuhkan suplai darah yang kaya atau banyak, dan ini nampak pada warna kemerahan pada luka yang baru menutup. Pembuluh darah ini, beberapa diantaranya akan menghilang sesuai dengan kebutuhan. Makrofag memproduksi *macrophage-derived angiogenic factor*, salah satunya angiopoetin 2, dan stimulasi angiogenesis untuk merespon oksigenasi jaringan yang rendah. Faktor ini berfungsi sebagai *chemoattractant* untuk sel-sel endotel. *Basic fibroblast growth factor* yang disekresi oleh makrofag, *vascular endothelial growth factor* yang disekresi oleh sel epidermal, *fibroblast growth factor-7*, *Epidermal growth factor*, dan aktivin yang disekresi oleh fibroblast juga penting untuk proses angiogenesis.

Pembentukan cabang cabang kapiler baru merupakan respon dari faktor faktor tadi. Sel sel endotel bergabung menjadi satu dan mengikat fibrin, yang akan mensupport pembentukan dinding pembuluh darah. Hasil dari angiogenesis adalah terbentuknya pembuluh pembuluh darah baru yang akan memberikan banyak suplai darah pada luka dan juga faktor faktor yang dibutuhkan untuk penyembuhan luka. Angiogenesis akan berhenti sesuai dengan kebutuhan akan pembuluh darah baru. Pembuluh pembuluh darah baru yang tidak dibutuhkan akan hilang dengan sendirinya (apoptosis).²

II. Fase remodeling / maturasi

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya fase ini berlangsung dari hari ke 7 sampai dengan 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronectin. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel subtratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan penumpukan kolagen oleh fibroblast. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan (yang keduanya dibentuk oleh fibroblast) dengan berat molekul besar berperan dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks.

Fibroblast merupakan penghasil utama kolagen. Fibroblast menghasilkan molekul prekolagen interseluler yang disebut tropocolagen pada batas membrane ribosom, membungkus procollagen kedalam vesikel sekretorik di apparatus golgi, dan kemudian mengeluarkannya menembus membrane sel kedalam ruang ekstraseluler dimana kolagen yang dihasilkan merupakan matriks yang paling dibutuhkan pada fase remodeling atau maturasi seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.²

II.5. PENGARUH FAKTOR SISTEMIK DAN LOKAL DALAM PROSES PENYEMBUHAN

Proses inflamasi dan proses perbaikannya (*repair*) berjalan bersamaan, hanya arahnya yang berlawanan . Terdapat sejumlah faktor sistemik dan faktor lokal yang dapat mengganggu proses penyembuhan luka.⁵

Faktor-faktor tersebut antara lain, faktor sistemik :

1. Nutrisi, pengaruhnya sangat menonjol. Defisiensi protein dan vitamin C mengganggu sintesis kolagen dan memperlama penyembuhan
2. Status metabolik, misalnya diabetes melitus
3. Status sirkulasi darah
4. Hormon glukokortikoid mempunyai pengaruh anti inflamasi, dapat mempengaruhi komponen inflamasi dan fibroplasia, sehingga dapat mengganggu sintesis kolagen

Faktor lokal

1. Infeksi, merupakan penyebab tunggal keterlambatan penyembuhan
2. Faktor mekanik misal mobilisasi awal, memperlambat penyembuhan luka
3. Benda asing seperti benang jahitan yang tidak terresorpsi, fragmen baja, pecahan tulang, merupakan halangan untuk penyembuhan luka
4. Macam, lokasi dan ukuran besarnya luka, mempengaruhi penyembuhan

Perlukaan di wajah lebih cepat sembuh daripada di kaki, karena wajah kaya vaskularisasi. Luka kecil karena trauma tumpul lebih cepat sembuh daripada yang besar. Komplikasi penyembuhan luka timbul karena beberapa penyebab antara lain ¹⁰:

1. Pembentukan jaringan parut tidak cukup
2. Pembentukan komponen perbaikan berlebihan
3. Terjadinya kontraktur

II.6. PENGARUH ANESTESI LOKAL TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA OPERASI

Nyeri secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamus, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem, otak dan sistem imun, adalah CRF (*Corticotrophin Releasing Factor*), ACTH, β endorfin, substansi P, dan lain-lain. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN (*Paraventricularis Nukleus*), dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dari beberapa perubahan yang diinduksi nyeri. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA (*Hipotalamus-Pituitaria-Adrenal*) dan aksis SAM (*Simpatetik Adrenal Medulary*). Pada

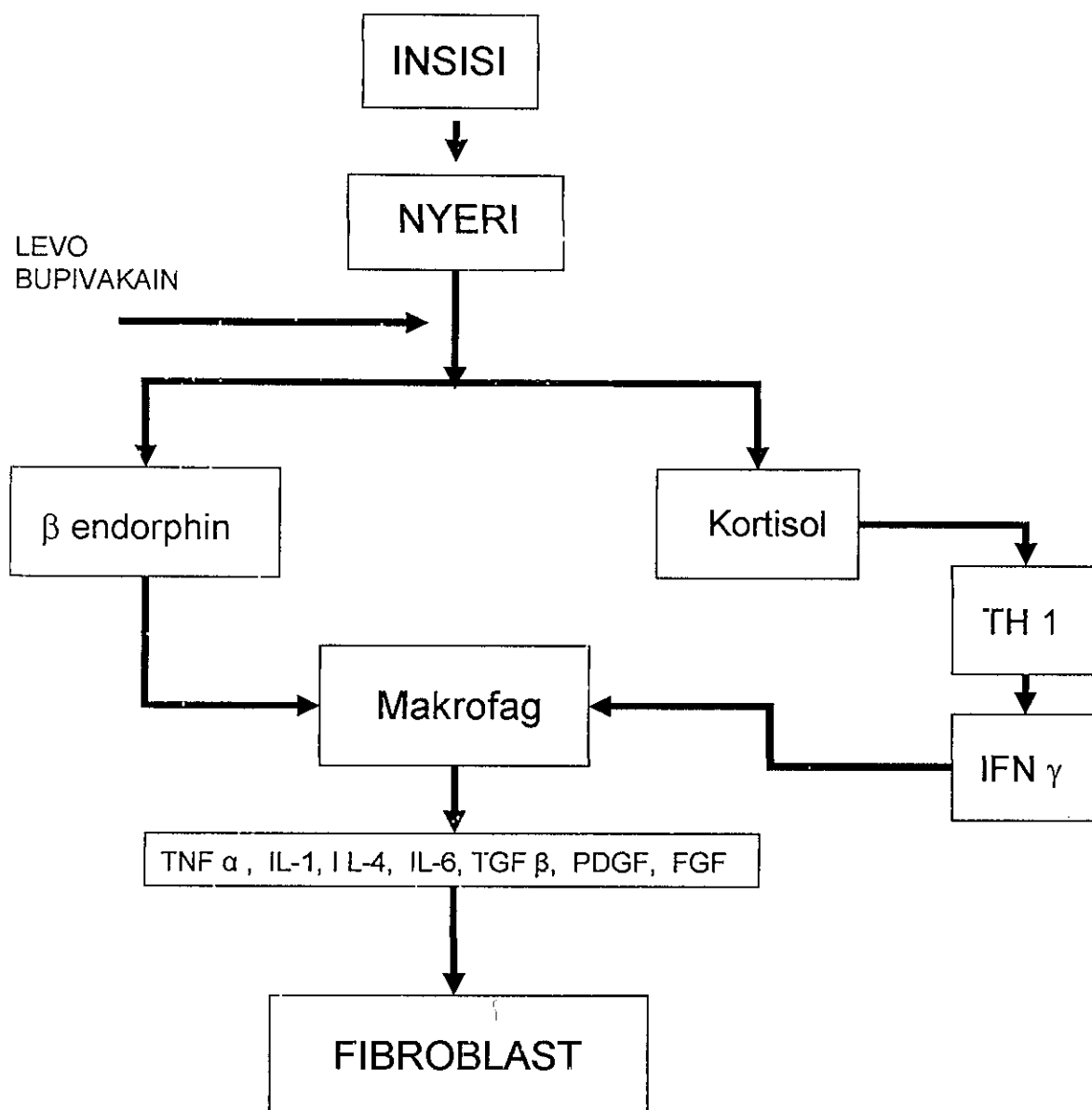
nyeri hebat sinyal berjalan melewati aksis HPA, menimbulkan disregulasi sistem imun sehingga terjadi penurunan ketahanan tubuh. Sinyal tersebut juga melewati aksis SAM, menimbulkan gejala patofisiologis berupa respon otonom, yaitu suatu respon biologis yang diekspresikan dalam bentuk peningkatan tekanan darah, nadi, respirasi, keringat dingin dan spasme otot.^{18, 19, 20}

Telah dilaporkan beberapa efek anestesi lokal terhadap proses penyembuhan luka. Cassuto dkk melaporkan bahwa pemakaian anestesi lokal secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasasi plasma pada tikus. Sedangkan Brofeldt dkk melaporkan penggunaan lidokain krim 5 % pada luka bakar parsial dengan konsentrasi yang dinaikkan sampai 2,25 mg/cm² berhubungan dengan berkurangnya nyeri, hilangnya komplikasi infeksi maupun alergi serta proses penyembuhan luka yang baik. Schmidt dan Rosenktanz melaporkan bahwa lidokain 2 % menghambat pertumbuhan semua bakteri patogen kecuali *Streptococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. De Amici dkk melaporkan bahwa bupivakain menghambat replikasi virus, sedang Rossenberg PH dkk melaporkan adanya efek bakterostatik dan antimikroba bupivakain. Vintar dkk melaporkan penggunaan anestesi lokal bupivakain lewat kateter pada luka efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia inguinalis dan penyembuhan lukanya lebih baik.^{21, 22, 23, 24}

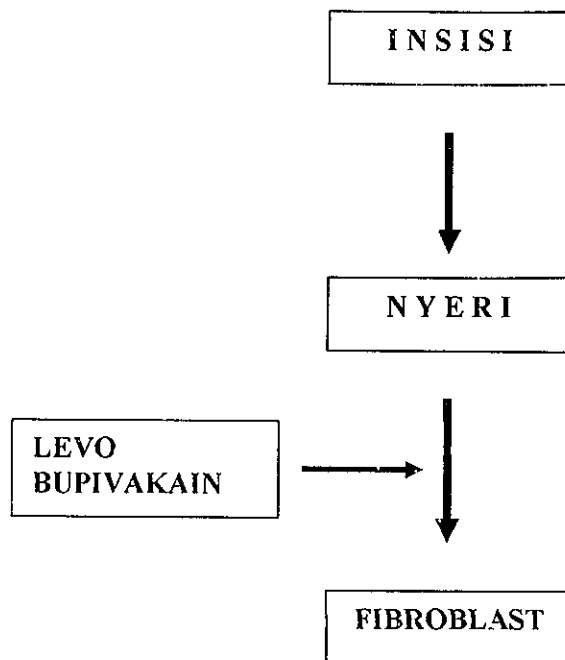
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

III.1. Kerangka teori



III.2. Kerangka Konsep



III.3. HIPOTESIS

Terdapat perbedaan jumlah fibroblast di sekitar luka insisi pada tikus yang diberi infiltrasi penghilang nyeri Levobupivakain dengan yang tidak diberi Levobupivakain.

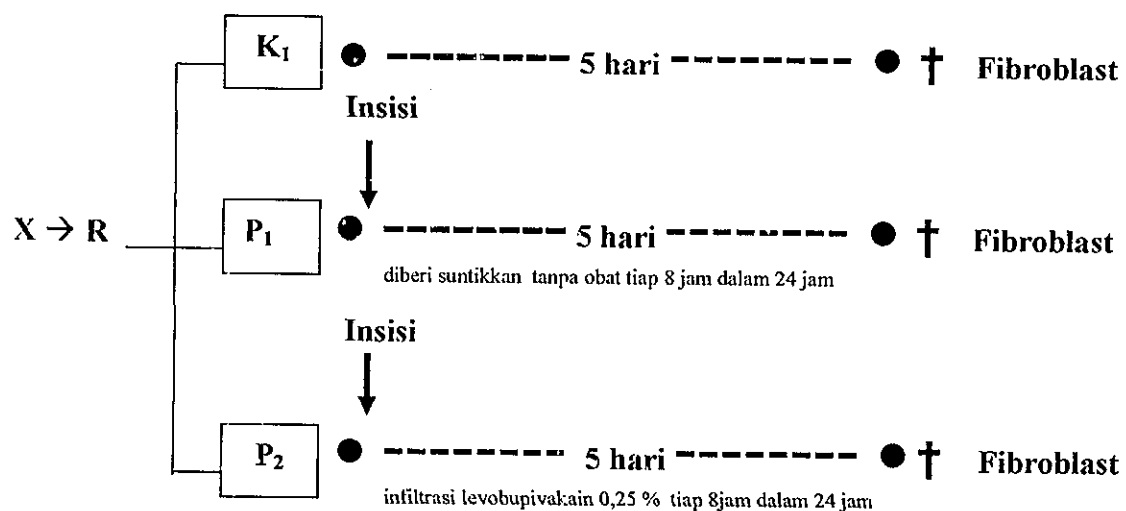
BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain "*Randomized Post test only control group design*" yang menggunakan binatang percobaan sebagai obyek penelitian. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain dengan keluaran (*outcome*) berupa jumlah fibroblast.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



Keterangan :

X → R : Masa adaptasi 7 hari

R : Randomisasi

K₁ : Kelompok kontrol , sebagai pembanding jumlah fibroblast tikus wistar tanpa dilakukan insisi

P₁ : Kelompok perlakuan I, tikus wistar yang dilakukan insisi tanpa diberikan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25%

P₂ : Tikus yang diberi perlakuan setelah dilakukan insisi kemudian diberi infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25 % setiap 8 jam pada 24 jam pertama

† : Tikus dimatikan

IV.2. Sampel penelitian

Hewan coba adalah tikus Wistar yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Kriteria inklusi:

- a. Keturunan murni
- b. Umur dua sampai dua setengah bulan
- c. Berat badan 250-300 gram.
- d. Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak

Kriteria eksklusi:

- a. Sakit selama masa adaptasi 7 hari
- b. Infeksi selama perlakuan berlangsung
- c. Mati selama perlakuan berlangsung.

Besar sampel menurut WHO adalah 5 ekor ³⁶, pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan 15 ekor, tiap kelompok 5 ekor.

Randomisasi: 15 tikus dikelompokkan secara random menjadi 3 kelompok yaitu:

Kelompok Kontrol (K) : 5 tikus

Kelompok Perlakuan (P₁) : 5 tikus

Kelompok Perlakuan (P₂) : 5 tikus

IV.3. Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 6 bulan. Perlakuan pada tikus sampai tindakan eksisi biopsi dilakukan di Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Proses blok parafin, pewarnaan dengan metode Van Gieson dan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah fibroblast dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Laboratorium Biomedik FK UNS Surakarta .

IV.4. Variabel penelitian

IV.4.1. Variabel bebas

Pemberian infiltrasi levobupivakain 0,25%

IV.4.2. Variabel tergantung

Hasil pemeriksaan jumlah fibroblast

Interpretasi hasil jumlah fibroblast didapatkan menghitung jumlah fibroblast yang tampak pada lima lapang pandang dari setiap preparat dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX41 yang dilengkapi dengan kamera digital dan memakai software OLYSIA. Hasil pengamatan jumlah fibroblast pada lima lapang pandang dari masing-masing sampel kemudian dirata-rata.

IV.5. Definisi operasional

- Infiltrasi levobupivakain adalah pemberian suntikan suatu obat anestesi lokal yang mempunyai masa kerja panjang berupa larutan 0,5% Chirokain yang diencerkan menjadi larutan 0,25% di sekitar luka \pm 0,5 cm dari tepi luka dengan spuit tuberkulin sepanjang luka insisi dengan dosis 0,0126 mg/kgBB
- Pemeriksaan histokimia adalah suatu metode pemeriksaan pewarnaan jaringan berdasarkan reaksi kimia yang terjadi antara jaringan dan zat kimia yang terdapat pada bahan pewarna. Jumlah fibroblast didapatkan menghitung jumlah dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dimana setiap sediaan diperiksa pada luas pandang 5 area.

IV.6. Bahan dan alat penelitian

V.6.1. Bahan untuk perlakuan

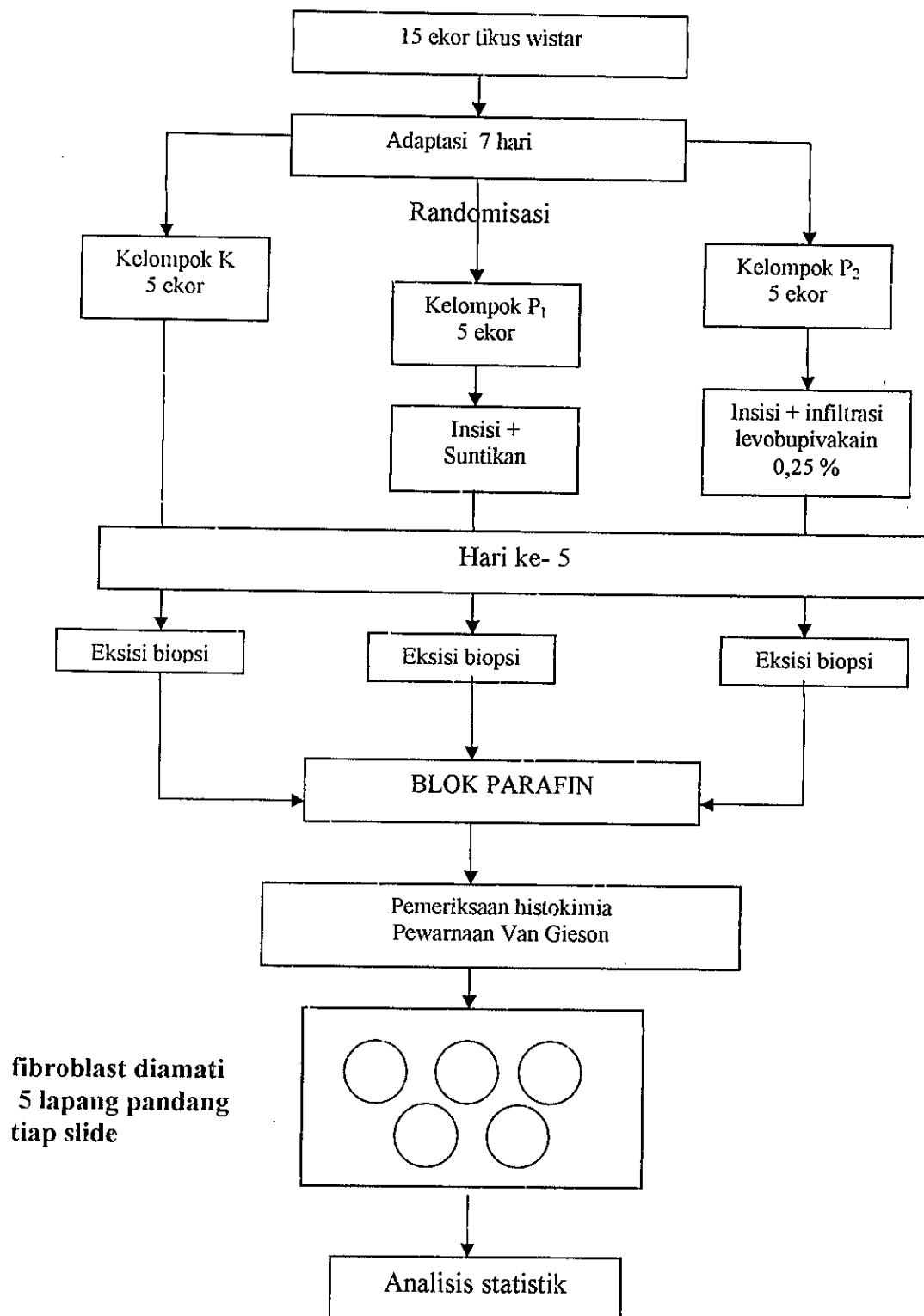
Hewan coba adalah tikus Wistar dengan umur 2 sampai 2,5 bulan dan berat 250-300 gram. Tikus Wistar adalah salah satu galur ratus-ratus, berasal dari benua Amerika. Banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian di bidang kedokteran, pengobatan, dan kedokteran hewan (Ensik.Nas.Ind.1991 hal. 308).

Tikus diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan standar dan minum secukupnya. Pakan standar yang diberikan dibuat oleh Laboratorium Pangan dan Gizi UGM (Wuryastuti *cit* Mulyata. St, 2002)

betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian luka ditutup dengan 5 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang *nylon* steril nomor 0000. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Pasca bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular. Pada kelompok perlakuan II (P_2), sesudah tikus terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian jaringan subkutis diberikan infiltrasi levobupivakain 0,25% dengan dosis 0,0126mg/kgBB dan luka ditutup dengan 5 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang *nylon* steril nomor 0000. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Pasca bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular. Setelah 8 jam, tikus pada kelompok perlakuan II (P_2) diberikan infiltrasi ulang levobupivakain 0,25% pada jaringan subkutis kedua daerah luka insisi, sedangkan pada kelompok Perlakuan I (P_1) dilakukan tusukan dengan jarum suntik. Hal ini dilakukan selama 24 jam pertama.

Pada hari ke 5 ketiga kelompok masing-masing diambil 5 ekor. Dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian dilakukan biopsi-eksisi pada jaringan bekas luka irisan 3 cm persegi dengan kedalaman sampai subkutis. Dari masing masing kelompok (kelompok K, P_1 dan kelompok P_2) diambil 5 jaringan eksisi biopsi dan dilakukan blok parafin kemudian dibuat preparat histokimia dengan pewarnaan Van Gieson. Sediaan kemudian diperiksa dibawah mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dari satu sediaan histokimia diamati 5 area. Kemudian hasil penghitungan jumlah fibroblast dari ketiga kelompok sampel dianalisis.

IV.7.2. Alur kerja



IV.8. Prosedur pemeriksaan

IV.8.1. Prosedur eksisi-biopsi

Tikus pada setiap kelompok dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Kelompok K, sesudah terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin, kemudian diusap dengan alkohol 70% selanjutnya dibuat eksisi biopsi kira-kira 3 cm persegi. Pada kelompok P₁ dan Kelompok P₂, jaringan bekas irisan diusap dengan alkohol 70% lalu dibuat eksisi-biopsi kira-kira 3 cm persegi melintasi garis irisan dengan kedalaman sampai subkutis. Semua jaringan eksisi biopsi dibuat blok parafin kemudian dibuat preparat histokimia dengan pewarnaan Van Gieson.

IV.8.2. Prosedur pembuatan preparat histokimia

a. Fiksasi

Jaringan biopsi eksisi dimasukkan kedalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam Phospat Buffer Saline pada pH 7,0). Waktu fiksasi jaringan 18 – 24 jam. Setelah fiksasi selesai, jaringan dimasukkan dalam larutan aquadest selama 1 jam untuk proses penghilangan larutan fiksasi.

b. Dehidrasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat. Jaringan menjadi lebih jernih dan transparan. Jaringan kemudian dimasukkan dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam dan kemudian larutan xylol murni selama 2x2 jam.

c. Impregnasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2 x 2 jam

d. Embedding

Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58⁰ C, ditunggu sampai parafin padat. Jaringan dalam parafin dipotong setebal 4 mikron dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca obyek yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58⁰ C sampai parafin mencair.

e. Pewarnaan dengan metode Van Gieson

Metode pewarnaan ini berdasar pada 3 warna (Trichrom) yaitu asam pikrat dan asam fuchsin dengan hematoksin. Jaringan pada kaca obyek dilakukan deparafinisasi sampai alkohol 70%, kemudian diberi larutan Hematoksin

WEIGERT (A dan B sama banyak) diamkan selama 5 menit, kemudian larutkan dalam air hangat 60°C agar berwarna biru kurang lebih selama 3- 10 menit. Bilas dengan aquabides dan bilas cepat dalam larutan C dengan cepat (1x celup). Kemudian dilakukan dehidrasi alkohol 96% 2x, absolut 2x, xylol 2x. Berikan Canada balsem dan tutup dengan kaca penutup.

V.9. Cara pengumpulan data

Dari masing masing kelompok pada hari ke-5 diambil 5 ekor kemudian dilakukan eksisi biopsi . Selanjutnya pada jaringan eksisi biopsi dilakukan fiksasi dengan blok parafin kemudian diwarnai dengan Van Gieson. Pembacaan hasil jumlah fibroblast menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dari satu sediaan diamati 5 area. Kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol (K), kelompok Perlakuan I (P₁) dan kelompok perlakuan II (P₂). Data diambil dari hasil pembacaan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Biomedik FK UNS Surakarta

V.10. Analisis data

Sebelum dilakukan uji hipotesis, data yang terkumpul terlebih dahulu di-*edit*, di-*coding*, di-*entry* dalam file computer dan di-*cleaning*, setelah itu dilakukan analisis statistik deskriptif dan analitik.

Dalam analisis deskriptif, dihitung nilai kecenderungan sentral (*mean* dan *median*) dan sebaran (SD) dari variabel tergantung (jumlah fibroblast). Hasilnya disajikan dalam bentuk tabel. Dibuat grafik *box-plot* menurut kelompok perlakuan. Untuk menilai normalitas dari variabel tergantung dilakukan uji *Shapiro-Wilk*. Data hasil pemeriksaan kolagen dilakukan uji hipotesis dengan *One-Way ANOVA*. Batas derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95 % interval kepercayaan. Analisa data dilakukan dengan program komputer SPSS 13. *for windows*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

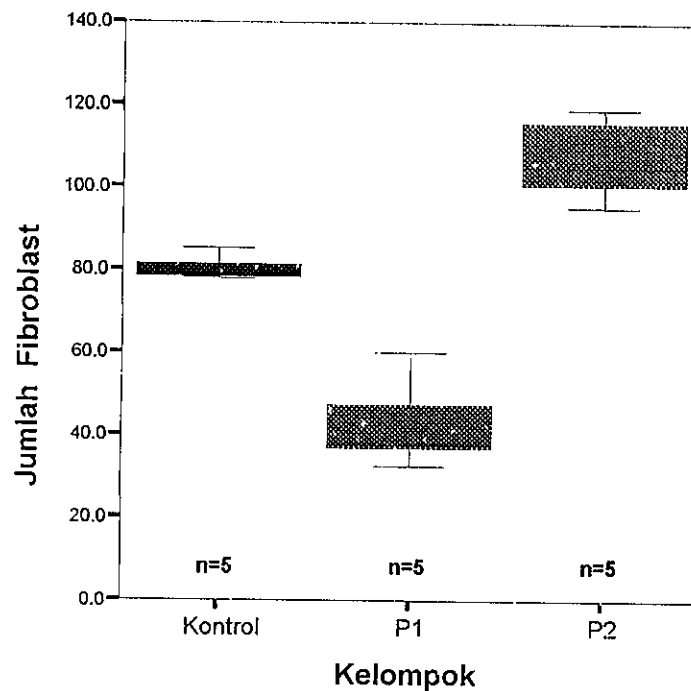
5.1. Hasil Penelitian

Tabel 1. Rerata dan Simpang Baku jumlah fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi

Kelompok perlakuan	Rerata	SD	Minimum	Maximum
Kontrol	80.76	3.035	78.2	85.6
Perlakuan 1	42.96	11.159	32.2	60.2
Perlakuan 2	106.96	10.059	95.0	118.8

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 2 adalah 106,96 (SD=10,059) lebih tinggi dibanding kelompok Kontrol yaitu 80,76 (SD=3,035) dan kelompok Perlakuan 1 yaitu 42,96 (SD=11.159). Jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 1 adalah yang paling rendah dibanding kelompok Kontrol maupun kelompok Perlakuan 2. Jumlah fibroblast pada masing-masing kelompok juga ditampilkan sebagai diagram *box-plot* pada gambar 1.

Hasil uji statistik dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara jumlah fibroblast antara kelompok Kontrol, Perlakuan 1 dan Perlakuan 2 ($p<0,001$). Hasil uji *post-hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 2 lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok Kontrol ($p<0,001$) maupun dibanding kelompok Perlakuan 1 ($p<0,001$). Hasil uji *post-hoc* Bonferroni juga menunjukkan bahwa jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan1 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok Kontrol ($p<0,001$).



Gambar 1. Diagram *box-plot* jumlah sel fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi pada kelompok kontrol, perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2

4.2. Pembahasan

4.2.1. Kelompok Perlakuan 1

Kelompok Perlakuan 1 adalah tikus wistar yang dilakukan insisi tanpa diberikan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain. Jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 1 paling rendah dibandingkan dengan Perlakuan 2 dan Kontrol. Hal ini dapat disebabkan karena nyeri. Menurut McCance (1994) nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem otak dan sistem imun antara lain *Corticotropic Releasing Hormon* (CRF), *Adreno Corticotropic Hormone* (ACTH), β endorfin, substansi P. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh *Paraventricularis Nucleus* (PVN) dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dan beberapa perubahan yang diinduksi stres. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis *Hipotalamus Pituitaria Adrenal* (HPA) dan aksis SAM (*Sympathetic Adrenal Medullary*).^{13, 14}

Dalam keadaan stres dan nyeri berat, kadar β endorfin yang disekresi kelenjar pituitaria meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat aktivitas sitokin yang dilepaskan makrofag yaitu $\text{TNF } \alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, $\text{TGF } \beta$ ikut menurun. $\text{TGF } \beta$ mempunyai peran menstimulasi fibroblast, meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi untuk proses penyembuhan luka.

4.2.2. Perbedaan antara Perlakuan 1 dan Perlakuan 2

Jumlah pada fibroblast pada kelompok perlakuan 2 yang lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok perlakuan 1. Hal ini disebabkan oleh penggunaan levobupivakain yang telah diberikan sejak insisi, dimana levobupivakain merupakan obat anestesi lokal dengan durasi lama yang dapat mengurangi nyeri akibat insisi. Karena nyeri berkurang atau hilang, maka dapat dicegah peningkatan β endorfin yang dilepas pituitaria, sehingga supresi terhadap makrofag dapat dicegah. Hal ini berhubungan langsung dengan jumlah fibroblast, dimana bila jumlah makrofag meningkat, akan disertai pula peningkatan jumlah fibroblast. Penyembuhan luka pada kelompok 2 juga didukung oleh aktifitas sitokin yang dilepas makrofag seperti $\text{TNF } \alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, $\text{TGF}\beta$, yang aktifitasnya tidak menurun.

4.2.3. Perbedaan antara Kontrol dan Perlakuan 2

Jumlah fibroblast pada kelompok perlakuan 2 juga lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok Kontrol. Pada kelompok Kontrol tidak terjadi rangsangan eksogen yang menimbulkan kerusakan sel, sehingga tidak memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darahnya, dan reaksi inflamasi tidak terjadi. Dengan demikian tidak terjadi peningkatan komponen seluler dan ekstra seluler. Yang termasuk komponen seluler adalah eritrosit, leukosit (netrofil, eosinofil, basofil, monosit, limposit) dan trombosit. Komponen ekstra seluler seperti kolagen, elatin, glikoprotein adesif, fibronectin laminin, kolagen non fibril, tenasin dan proteoglikan, sedangkan yang termasuk komponen jaringan ikat adalah sel mast, fibroblast, monosit, makrofag dan limfosit. Karena tidak ada proses inflamasi maka jumlah fibroblast pada kelompok Kontrol menjadi lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan 2.

Karena keterbatasan dana dan waktu, peneliti hanya melihat satu sisi dari penyembuhan luka, yaitu pengaruh pemberian infiltrasi levobupivakain terhadap jumlah fibroblast. Perlu dilihat juga bahwa jumlah fibroblast mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka.

Beberapa peneliti melaporkan beberapa efek anestesi lokal terhadap proses penyembuhan luka. Cassuto dkk melaporkan bahwa pemakaian anestesi lokal secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasi plasma pada tikus. Sedangkan Brofeldt dkk melaporkan penggunaan lidokain krim 5 % pada luka bakar parsial dengan konsentrasi yang dinaikkan sampai 2,25 mg/cm² berhubungan dengan berkurangnya nyeri, hilangnya komplikasi infeksi maupun alergi serta proses penyembuhan luka yang baik. Schmidt dan Rosenktanz melaporkan bahwa lidokain 2 % menghambat pertumbuhan semua bakteri patogen kecuali *Streptococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. De Amici dkk melaporkan bahwa bupivakain menghambat replikasi virus, sedang Rossenberg PH dkk melaporkan adanya efek bakterostatik dan antimikroba bupivakain. Vintar dkk melaporkan penggunaan anestesi lokal bupivakain lewat kateter pada luka efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia inguinalis dan penyembuhan lukanya lebih baik.^{21, 22, 23, 24}

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

1. Tanpa diberikan infiltrasi levobupivakain, jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 1 paling rendah dibandingkan dengan Perlakuan 2 dan Kontrol. Hal ini dapat disebabkan karena nyeri.
2. Dengan infiltrasi levobupivakain, nyeri dapat ditekan sehingga jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 2 lebih tinggi daripada kelompok Perlakuan 1.
3. Jumlah fibroblast pada kelompok Perlakuan 2 lebih banyak daripada Kontrol, karena pada kelompok kontrol tidak ada proses inflamasi.

7.2. Saran

Mengingat keterbatasan dana dan waktu, peneliti berharap untuk dilakukan penelitian lebih lanjut untuk :

- Mencari dosis yang efektif infiltrasi levobupivakain pada pengaruhnya terhadap produksi fibroblast.
- Menghubungkan jumlah fibroblast dengan kecepatan penyembuhan luka.

Apabila memang sudah betul terbukti, hasilnya dapat direkomendasikan untuk pemberian infiltrasi levobupivakain pada luka insisi setelah pembedahan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sabiston CD. Wound healing : Biologic and Clinical Features. Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice, 15th ed.1997. WB Saunders Comp. Philadelphia: 207 – 219
2. Mercandetti M, Cohen A. Wound healing, healing and repair. EMedicine. October 7. 2002. <http://www.eMedicine.com.Inc>
3. Richard Bucala. Fibrocytes : circulating fibroblast that mediate tissue repair. 2004. <http://www.etrns.com>.
4. Michell WD and Smith G. The control of acute post operative pain. British Journal of Anaesthesia 1989 ; 63 : 147 - 158
5. Ike SM Redjeki. Pengelolaan nyeri pascabedah. 1st National Congress Indonesian Pain Society ; 2001;58 - 62
6. Pleuvry B J. The chemical modulation of nociceptive responses and pain. In : Healy T E J, Cohen P J. eds. A practice of anesthesia. 6th ed. London Edward Arnold. 1995 : 80-8
7. Galindo M A, Levobupivacain, a long acting local anaesthetic, with less cardiac and neurotoxicity. <http://www.ndaa.ox.ac.uk/wfsa/html/u14/u1407-01.html>
8. Mulyata St . Analisis imunohistokimia TGF β 1, indikasi hambatan kesembuhan luka operasi episiotomi pada tikus Sprague Dawley. 1st Indonesian simposium on obstetric anaesthesia, Bandung 2002
9. Stoelting R K. Local anesthetics. In : Stoelting R K. Pharmacology and physiology in anesthetic practice. 3rd ed. Philadelphia. New York : JB Lippincott ; 1999. 45-67
10. Nazarudin U. Acute pain management strategies that work. Kumpulan makalah PIB XI .Medan 2002 : 421
11. Bonica J J. anatomic and physiologic basis of pain and nociception and pain. In : Bonica J J. ed. The management of pain. Pennsylvania. Lea and Febiger. London. 1990 : 12-28
12. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Champbell J N. Pain 1996 an update review. IASP press. Seattle. 1996 : 103-112
13. Webster E, Torpy D J, Elenkov I. et al. Corticotropin releasing hormone and inflammation. Annals of the New York Academy of Sciences. 1998 ; 840 : 21-32

14. Melzacks R, Wall P. The gate control theory of pain. In : Melzacks R, Wall P. The challenge of pain 1st ed. Penguin education. 1984 : 223-261
15. Gillian S et al. Topical estrogen accelerates cutaneous wound healing in aged humans associated with analtered inflammatory respon. Am J Pathol ,1999.155; 1137 – 1146
16. George W et al. Wound healing. Textbook of surgery; vol IA, New York , Tokyo, Oxford University Press 1994 ; 3 – 23
17. Cotran Ramzi S, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. W B Saunders Co. Philadelphia. 1999 : 21-201
18. Churchill H C, Davidson. Pain clinical and operative nerve block. In : A practice of anesthesia. 5th ed. PG pub. Pte. Ltd. Singapore. 1986 : 893-900
19. Hollmann , Markus W, Durieux E, Local anesthetics and the inflammatory response : A new therapeutic indication , Anesthesiology. September 2000; 93 : 858-75
20. Fileds H L, The peripheral pain sensory system. In : Pain 1st ed. New York. Mc Graw Hill Co. Inc; 1987 :13-37
21. Raymond R G, William G B. Pain management. In : Morgans G E, Mikhail M S. eds. Clinical anesthesiology. 1st ed. Prentice hall int. Inc. New Jersey. 1992 : 269-273
22. Pettersson N, Berggren P, Larsson M. et al. Pain relief by wound infiltration with bupivacaine or high dose ropivacaine after inguinal hernia repair. Reg Anesth Pain Med.1999 ; 24 : 569-75
23. Vintar N, Pozlep G, Rawal N, et al. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. Can J of An 2002 ; 49: 481-6
24. Bultmann M, Streich R, Risse A. et al: Postoperative analgesia in children after hernioplasty. Wound infiltration with different concentrations of bupivacaine : a pilot study (German).Anaesthesist 1999 ; 48 : 439-433